

## Aktivitas Proporsi Berbagai Cairan Rumen dalam Mengatasi Tannin dengan Teknik *In Vitro*

G. Muslim, J.E. Sihombing, S. Fauziah, A. Abrar, dan A. Fariani

Program Studi Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Sriwijaya  
Jl. Raya Palembang – Prabumulih KM 32, Indralaya, Ogan Ilir, Sumsel, 30662.

### ABSTRAK

Penelitian ini dilakukan untuk mempelajari aktivitas proporsi berbagai cairan rumen dalam mengatasi tannin melalui teknik *in vitro*. Penelitian ini dilakukan selama 2 bulan di Laboratorium Nutrisi dan Makanan Ternak Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya. Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan acak lengkap dengan 3 proporsi cairan rumen dari berbagai ternak ruminansia (sapi, kambing, dan kerbau). Perlakuan terdiri atas P1 (25:50:25); P2 (25:25:50) dan P3 (50:25:25). Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 4 kali. Parameter yang diamati adalah total populasi bakteri (cfu/ml), konsentrasi tannin (mg/ml), dan konsentrasi N-NH<sub>3</sub> (mM). Semua perlakuan menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata, akan tetapi total populasi bakteri meningkat pada setiap perlakuan. Konsentrasi tannin tidak berbeda nyata kecuali untuk P3 (0.078 mg/ml menjadi 0.060 mg/ml). N-NH<sub>3</sub> pada semua perlakuan tidak berbeda nyata (0.05 mM), akan tetapi ada aktivitas mikroba pada semua perlakuan. Dapat disimpulkan bahwa terdapat bakteri di berbagai cairan rumen yang mampu mencerna dan toleran terhadap tannin.

Kata kunci : Aktivitas proporsi, berbagai cairan rumen, tannin, teknik *in vitro*

### PENDAHULUAN

Pencernaan adalah rangkaian proses perubahan fisik dan kimia yang dialami bahan makanan selama berada dalam alat pencernaan. Proses pencernaan makanan pada ternak ruminansia relatif lebih kompleks dibandingkan proses pencernaan pada jenis ternak lainnya.

Perut ternak ruminansia dibagi menjadi empat bagian yaitu retikulum (perut jala), rumen (perut beludru), omasum (perut bulu) dan abomasum (perut sejati). Dalam studi fisiologi ternak ruminansia, rumen dan retikulum sering dipandang sebagai organ tunggal dengan sebutan retikulorumen. Omasum disebut sebagai perut buku karena

tersusun dari lipatan sebanyak sekitar 100 lembar (Mindelwill, 2006).

Pada ternak ruminansia terdapat empat jenis mikroba yang menguntungkan yaitu bakteri, protozoa, jamur (fungi), dan virus pada kondisi ternak yang sehat. Dari keempat jenis mikroba tersebut, bakteri mempunyai jenis dan populasi tertinggi. Cacahan sel pergram isi rumen mencapai  $10^{10}$ – $10^{11}$ , sedangkan populasi tertinggi kedua yaitu protozoa yang mencapai  $10^5$ – $10^6$  cacahan sel pergram isi rumen (Ogimoto dan Imai, 1980). Mikroba rumen memiliki sifat saling ketergantungan dan berintegrasi satu sama lainnya. Interaksi mikroba memberikan kestabilan dan adaptasi yang baik dalam rumen. Mikroorganisme saling

berperan dalam beradaptasi dengan pakan yang berbeda faktor dan pembandingnya.

Mikroorganisme dalam rumen berperan untuk membantu proses pencernaan dan pertahanan tubuh. Protein mikroba rumen merupakan biomassa sumber utama nitrogen untuk ternak. Peningkatan protein mikroba dipengaruhi oleh faktor lingkungan yang beragam dan faktor populasi bakteri (Brooker *et al*, 1993). Banyaknya jenis mikroorganisme rumen dan masing-masing mikroorganisme memiliki produk fermentasi intermediet dan produk akhir fermentasi yang beragam menyebabkan kehidupan dalam rumen menjadi kompleks.

Proses pencernaan fermentatif dalam retikulo rumen terjadi sangat intensif. Hal ini menguntungkan, karena pakan dapat diubah dan disajikan dalam bentuk yang lebih mudah diserap. Selain itu ternak ruminansia dapat juga memanfaatkan pakan dengan kandungan serat kasar yang tinggi dalam jumlah yang banyak. Ekosistem mikroba rumen sangat stabil dan dinamis. Pada ternak yang sehat kontaminasi ekosistem seolah tidak terjadi, pada kenyataannya jutaan mikroba dalam rumen banyak berasal dari pakan, air minum dan udara setiap harinya. Ekosistem rumen dinamis, ketika rumen tidak mengalami perubahan pakan, mikroba rumen dapat beradaptasi dengan pakan tersebut. Hal ini terjadi karena mikroorganisme teradaptasi untuk terus hidup dalam rumen dan yang tidak mampu beradaptasi akan tereliminasi (Kamra, 2005).

Proses adaptasi mikroorganisme rumen merupakan salah satu bentuk pertahanan tubuh dari ternak itu sendiri. Mikroba rumen berperan sebagai pertahanan tubuh terhadap serangan-serangan toksik atau antinutrisi yang dihasilkan

dalam proses pencernaan. Namun, tidak selamanya zat antinutrisi memberikan pengaruh negatif, konsumsi pakan yang mengandung tanin dapat berpengaruh resisten pada kehidupan rumen terhadap parasit gastrointestinal nematode. Kandungan tanin dari tanaman pada iklim yang berbeda berpotensi untuk meningkatkan suplai dan penyerapan protein tercerna (Pell, 2003).

Komposisi dan populasi mikroba rumen ditentukan oleh jenis pakan yang dikonsumsi dan interaksi antar mikroba rumen (Preston *et al*, 1987). Wiryawan *et al* (2003) berhasil mengisolasi bakteri pendegradasi tannin dari cairan rumen ternak yang telah beradaptasi dengan legume kaliandra. Hal serupa telah dilakukan oleh Abrar (2001) yang berhasil mengisolasi mikroba rumen sebagai bakteri pendegradasi sianida dari cairan rumen domba yang telah teradaptasi dengan sianida.

Hal ini menunjukkan bahwa tiap jenis ternak memiliki komposisi mikroba yang berbeda-beda akibatnya aktivitas mikroba juga berbeda-beda. Untuk itu perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui aktifitas campuran mikroba rumen yang diharapkan dapat bersinergi dalam mendegradasi tanin. Penelitian ini bertujuan mempelajari aktivitas kultur campuran mikroba dari berbagai ternak ruminansia dalam mengatasi tannin dengan teknik *in vitro*.

## BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan adalah asam tanin, cairan rumen kambing, cairan rumen sapi, cairan rumen kerbau yang diambil dari Rumah Potong Hewan (RPH) Gandus Palembang, larutan *Brain Heart Infusion Agar* (BHI),

resazurin, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,1 N, larutan Gelatin, dan Bacto Agar.

### Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode eksperimen. Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 3 (tiga) perlakuan dan 4 (empat) ulangan, dimana perlakuan meliputi proporsi cairan rumen yang berbeda dalam kultur *in vitro*. Adapun perlakuannya dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi Masing-masing Cairan rumen

Perlakuan	Komposisi Cairan Rumen (%)		
	Sapi	Kambing	Kerbau
P1	25	50	25
P2	25	25	50
P3	50	25	25

Metode linier yang digunakan adalah sebagai berikut (Stell and Torrie, 1995)

$$Y_{ij} = \mu + i_j + \sum ij,$$

dimana;

$Y_{ij}$  = Nilai pengamatan

$\mu$  = Nilai tengah

$i_j$  = Pengaruh perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

$\sum ij$  = Galat percobaan dari perlakuan ke-i dan ke-j

$i$  = Jumlah perlakuan

$j$  = Jumlah ulangan

### Pelaksanaan Penelitian

#### Pengambilan Sampel dan Preparasi

1. Siapkan termos air yang telah diisi dengan air hangat (40-50° C).

2. Isi rumen cairan diambil dari ternak yang baru mati atau baru dipotong melalui fistula.
3. Masukkan isi rumen dalam termos yang telah dikosongkan isinya
4. Padatkan termos dengan memasukkan isi rumen.
5. Tutup termos rapat-rapat dan secepatnya bawa ke laboratorium untuk pengerjaan berikutnya

Untuk pembuatan kultur bakteri rumendilakukan dengan cara sebagai berikut: isi rumen diambil 5 ml dimasukkan dalam blender yang berisi 45 ml larutan media pengencer, sebelumnya blender disemprot gas CO<sub>2</sub> terus-menerus dan diblender selama 5 menit, kemudian gas CO<sub>2</sub> ditampung dalam tabung, lalu hasil pencampuran tadi dimasukkan dalam tabung Hungate lakukan pengenceran sampai 6 kali pengenceran.

#### Tahap Adaptasi Masing-masing Cairan Rumen

Tahap adaptasi awal yaitu diambil 5 ml dari masing-masing isi rumen segar (isi rumen kambing, isi rumen sapi, dan isi rumen kerbau) kemudian masukkan ke dalam tabung fermentor yang telah berisi 45 ml larutan media pengencer dan asam tanin 1,5 % dan di aduk selama 5 menit sampai merata sambil disemprot gas CO<sub>2</sub> secara terus menerus. Setelah itu inkubasi selama 48 jam. Pada akhir masa inkubasi diambil sampel untuk ditumbuhkan pada tabung Hungate.

Adaptasi selanjutnya dari masing-masing isi rumen segar (isi rumen kambing, isi rumen sapi, dan isi rumen kerbau) lalu masukkan ke dalam tabung fermentor yang telah berisi 45 ml larutan media pengencer dan asam tannat 2 %

dan diaduk selama 5 menit sampai merata sambil disemprot gas CO<sub>2</sub> secara terus menerus. Setelah itu inkubasi selama 48 jam.

### Persiapan Perlakuan

Cairan rumen teradaptasi berikutnya dicampur sesuai perlakuan dan diinkubasikan dalam Mc Dougall sebanyak 45 ml yang telah mengandung tannin 2%, mengikuti metode Wiryawan *et al* (2003). Campuran tersebut disemprot dengan gas CO<sub>2</sub>, kemudian diinkubasikan selama 48 jam. Dicatat konsentrasi tanin pada media tumbuh sebelum dan sesudah inkubasi dan dicatat jumlah koloni bakteri yang tumbuh setelah diinkubasi.

Bakteri dari cairan rumen teradaptasi tadi ditumbuhkan pada media BHI Agar yang telah dimodifikasi dengan penambahan asam tannat 2 %. Cara pembuatan media BHI Agar yang dimodifikasi oleh Abrar (2001) yaitu dengan komposisi:

BHI Agar	3.7 gram
Aquadest	100 ml
Asam tanin	1 ml

Bahan-bahan diatas dimasukkan ke dalam labu kemudian dididihkan sambil digoyang-goyang sampai merata, kemudian tambahkan 0.1 ml larutan resazurin 0.1% sambil terus diberi gas CO<sub>2</sub> hingga warnanya berubah dari merah muda menjadi tidak berwarna dan memiliki pH 7 dan media siap untuk digunakan.

Untuk menghitung total populasi bakteri digunakan metode pencacah koloni bakteri yang hidup. Prinsip perhitungannya adalah cairan rumen diencerkan secara serial lalu dibiakkan dalam tabung Hungate. Langkah-langkah yang dilakukan adalah sebagai berikut:

1. Membuat media tumbuh yang spesifik (media BHIA+asam tanin 2 %) dengan jenis bakteri yang dibiakkan, yaitu dengan cara bahan-bahan media dicampur, kemudian dimasukkan dalam botol yang telah di autoclave. Media yang digunakan adalah media BHI Agar.
2. Cairan tersebut dipanaskan perlahan-lahan sambil dialirkan gas CO<sub>2</sub> sampai terjadi perubahan warna dari coklat menjadi merah dan berubah lagi menjadi coklat muda lalu didinginkan.
3. Selanjutnya media dimasukkan dalam tabung Hungate masing-masing 4,5 ml yang sebelumnya telah diisi

Menurut Ogimoto dan Imai (1980), contoh cairan rumen yang akan dikulturkan diencerkan terlebih dahulu dengan media pengencer. Pengenceran dilakukan sebagai berikut:

1. 0.5 ml cairan rumen dimasukkan kedalam 4.5 ml media pengencer. Selanjutnya diambil kembali 0.5 ml lalu dimasukkan kedalam media pengencer berikutnya, perlakuan tersebut diulang sampai 6 kali (6 seri tabung Hungate).
2. Selanjutnya dari masing-masing seri tabung pengenceran diambil sebanyak 1 ml ke media BHI Agar 3 ml lalu dialiri gas kemudian diputar (role tube) sambil dialiri air, sehingga media dapat memadat secara merata pada dinding tabung bagian dalam. Selanjutnya inkubasi selama 2 hari. Perhitungan bakteri dilakukan dengan cara sebagai berikut;

$$\text{Populasi bakteri} = n \times 10^x \text{ cfu}$$

Keterangan:

n : jumlah koloni terdapat pada tabung seri pengenceran ke-x

x : jumlah seri pengenceran

Penentuan kandungan tannin dihitung dengan menggunakan metode presipitasi protein. Sebanyak 1 ml cairan rumen yang telah teradaptasi dengan asam tanat 3% dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu di ekstraksi dengan methanol 50% selama 1 menit (dengan shaker atau vortex). Kemudian di sentrifuse dengan kecepatan 5000 rpm selama 5-10 menit atau 3000 rpm selama 15 menit. Sebanyak 1 ml supernatan sampel ditambahkan 1 ml larutan standar BSA (2 mg/ml) setelah itu dibiarkan selama 20 menit di ruang pendingin (5°C), lalu di sentrifuse selama 15 menit pada 3000 rpm. Cairannya dibuang dan endapannya di cuci dengan menggunakan larutan Buffer Asetat pH 5 sebanyak 3 kali dengan meneteskan secara perlahan melalui dinding tabung reaksi. Endapan dilarutkan dengan 4 ml SDS-TEA dan ditambah 1 ml larutan FeCl<sub>3</sub> dalam HCl 0.01 M. Campuran dikocok dengan vortex lalu didiamkan selama 20 menit pada temperatur kamar. Serapannya diukur dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 510 nm.

Larutan standar dibuat dengan melarutkan 50 mg asam tannat dengan metanol absolut (konsentrasi 1 mg/ml). Dibuat deret standar dengan cara memipet larutan induk diatas sebanyak : 0, 1, 2, 3, 4, dan 5 ml kemudian dijadikan 10 ml. Larutan standar itu mempunyai konsentrasi 0.00, 0.01, 0.02, 0.03, 0.04, 0.05, 0.06, 0.07, 0.08, 0.09 dan 0.1 mg/ml. Masing-masing dipipet sebanyak 1 ml ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 1 ml larutan

BSA (2 mg/ml), selanjutnya dilakukan cara kerja seperti terhadap sampel. Warna larutan yang diperoleh adalah ungu kehitaman.

### Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisa dengan menggunakan analisa keragaman. Jika didapatkan perbedaan yang nyata antar perlakuan, maka dilakukan uji lanjut beda rata-rata nilai dengan *Duncan Multi Range Test* (DMRT) (Stell and Torrie, 1995)

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Tahap Adaptasi Masing-Masing Cairan Rumen

Pada penelitian ini cairan rumen untuk perlakuan adalah cairan rumen kerbau, sapi dan kambing yang diambil dari Rumah Potong Hewan. Cairan rumen tersebut diinkubasi dalam media tanin 1,5 % agar terjadi proses adaptasi dan seleksi mikroba. Hasil inkubasi terdapat koloni-koloni bakteri yang tumbuh, ini menunjukkan koloni bakteri adalah bakteri yang tahan terhadap tanin. Proses adaptasi mikroorganisme rumen merupakan salah satu bentuk pertahanan tubuh dari ternak itu sendiri.

Selanjutnya dilakukan tahap adaptasi kedua yang ternyata masih menghasilkan koloni-koloni yang tumbuh pada media tersebut. Koloni-koloni yang tumbuh ini menunjukkan bahwa bakteri dalam rumen teradaptasi mampu bertahan atau toleran terhadap tannin 2 %. Gambar koloni yang tumbuh pada media Hungate dapat dilihat pada Gambar 1.

Pada penelitian ini digunakan larutan Larutan Mc Dougall's, larutan ini ditambahkan sebagai pengganti saliva untuk memberikan

fungsi buffer dalam sistem *in vitro* (Arora, 1983). Menurut Tilman *et al* (1998), saliva mengandung sejumlah natrium bikarbonat yang sangat penting menjaga pH dan berfungsi sebagai buffer terhadap asam lemak terbang yang dihasilkan oleh fermentasi bakteri.



Gambar 1. Koloni-koloni yang tumbuh setelah diinkubasi pada media BHI Agar

Pada penelitian ini digunakan larutan Larutan Mc Dougall's, larutan ini ditambahkan sebagai pengganti saliva untuk memberikan fungsi buffer dalam sistem *in vitro* (Arora, 1983). Menurut Tilman *et al* (1998), saliva mengandung sejumlah natrium bikarbonat yang sangat penting menjaga pH dan berfungsi sebagai buffer terhadap asam lemak terbang yang dihasilkan oleh fermentasi bakteri.

### Total Populasi Bakteri

Setelah dilakukan perhitungan bakteri, maka didapat hasil counting bakteri yang ditunjukkan pada Table 2. Rataan total perhitungan bakteri sebelum inkubasi dan setelah inkubasi dengan asam tanat 2 % yang diinkubasikan pada media *BHI Agar* selama 12 jam pada setiap perlakuan meningkat. Menurut Pell *et al* (2003), mikroba rumen mampu untuk toleran dan detoksi terhadap kandungan tanin yang tinggi. Total populasi bakteri yang peningkatannya paling banyak adalah pada P1 dan P2 masing-masing  $258.75 \times 10^6$  cfu.

Dari Tabel 2, dapat dilihat bahwa pada masa inkubasi 12 jam dan 24 jam terjadi peningkatan jumlah populasi bakteri. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri yang terdapat pada media mampu beradaptasi dengan asam tannat 2%, sehingga bakteri tersebut mampu membentuk koloni dan jumlah koloni tersebut juga bertambah dari inkubasi selama 12 jam dan 24 jam. Syahriani (1998) melaporkan bahwa semakin tinggi populasi bakteri yang diinokulasikan, maka dampak terhadap pencernaan pakan akan semakin tinggi.

Tabel 2. Rataan total perhitungan bakteri sebelum dan sesudah inkubasi yang diinkubasikan pada media *Brain Heart Infusion Agar* selama 12 dan 24 jam

Populasi Mikroorganisme	Total Populasi Bakteri ( $\times 10^6$ cfu)			
	12 jam		24 jam	
	sebelum	sesudah	sebelum	sesudah
P1	158,00	258,75	176,00	279,50
P2	190,75	258,75	211,50	277,75
P3	142,50	146,00	116,25	198,50

Pada penelitian ini didapatkan pH yang normal. Hal ini menunjukkan bahwa mikroba dalam setiap perlakuan masih mampu hidup pada kondisi tanin 2%. Pertumbuhan isolat dan

perubahan asam tannat pada tingkat pH yang tinggi diperlukan untuk hidrolisa asam (Nelson, *et al.*, 1995). Menurut Sayuti (1989), pH cairan rumen dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu

jumlah saliva yang masuk kedalam rumen, aktivitas fermentasi atau produk fermentasi dan pengolahan makanan sebelum diberikan pada ternak. Selain itu, pH rumen dapat mempengaruhi tipe/jenis bakteri. Pada penelitian ini tidak diketahui bakteri spesifik yang mampu menurunkan konsentrasi tannin ataupun bakteri spesifik yang toleran terhadap tannin karena memang tidak dilakukan spesifikasi bakteri yang mampu mendegradasi tannin.

Hasil penelitian Brooker *et al* (2003), menyatakan bahwa terdapat bakteri spesies yang resisten terhadap tannin. Pell *et al* (2003) juga berhasil menumbuhkan bakteri yang toleran terhadap asam tanat yang diisolasi dari cairan rumen kambing dan domba. Sedangkan pada penelitian ini, perlakuan yang komposisi cairan rumen kambingnya paling banyak tidak mampu mendegradasi tannin tetapi bakteri tersebut toleran terhadap tannin. Menurut Tagari *et al* (1965), bakteri selulolitik toleran terhadap tannin.

Hasil penelitian Mc Sweeney *et al* (1999) menunjukkan bahwa tannin ternyata mempunyai efek berbahaya untuk mikroba rumen. Namun pada bakteri yang mampu mendegradasi tannin dapat berkembang biak dan dapat meningkatkan jumlah bakteri yang toleran terhadap kandungan tannin pada pakan. Andini (2003) mengatakan bahwa tannin juga mempunyai efek menguntungkan antara lain dapat melindungi protein dari degradasi mikroba rumen (*protein by pass*) sehingga langsung dapat diserap oleh usus halus.

### Konsentrasi Tannin

Rataan konsentrasi tannin sebelum dan sesudah inkubasi dapat dilihat pada Tabel 3.

Hasil analisis keragaman menunjukkan bahwa konsentrasi tannin sebelum inkubasi tidak menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P < 0.05$ ) dan begitu juga sesudah inkubasi. Konsentrasi tannin sebelum dan sesudah inkubasi menunjukkan adanya peningkatan. Hal ini membuktikan bahwa asam tannin mampu mengikat protein yang terdapat pada cairan rumen karena di dalam cairan rumen ternak ruminansia mengandung protein.

Tabel 3. Rataan konsentrasi tannin sebelum dan sesudah inkubasi

Perlakuan	konsentarsi tanin mg/ml	
	Sebelum Inkubasi	Setelah Inkubasi
P1	0,190	0,244
P2	0,175	0,318
P3	0,112	0,103

Protein yang berikatan dengan tannin tidak hanya protein substrat tetapi juga protein mikroba. Kemampuan tannin untuk bereaksi dengan protein menimbulkan masalah pada penyiapan enzim atau protein dari beberapa tumbuhan. Kemampuan tannin dalam mengendapkan protein disebabkan adanya sejumlah gugus fungsional yang dapat membentuk ikatan kompleks yang sangat kuat dengan protein, sehingga dapat menghambat kerja beberapa enzim serta menurunkan pencernaan protein dengan aktivitas enzimatik.

Peningkatan konsentrasi tannin ini disebabkan oleh karena tannin dan bakteri saling berinteraksi, dimana tannin mengikat protein atau bakteri yang tidak toleran terhadap tannin sehingga konsentrasi tannin meningkat. Meskipun konsentrasi tannin meningkat tetapi jika dilihat dari Tabel 3 ternyata jumlah koloni bakteri juga meningkat. Hal ini menunjukkan bahwa mikroba tersebut toleran terhadap

konsentrasi tannin 2%. Wiryawan (1999) tannin mempunyai efek berbahaya untuk mikroba rumen. Namun demikian, pada bakteri yang mampu untuk mendegradasi tannin dapat berkembang biak dan meningkatkan jumlah bakteri yang toleran terhadap kandungan tannin pada pakan.

Pada perlakuan P3, terjadi penurunan konsentrasi tannin tetapi diuji secara statistik tidak berbeda nyata yakni sebelum inkubasi konsentrasi tanninnya 0.112 mg/ml menjadi 0.103 setelah diinkubasi. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri yang terdapat pada perlakuan P3 mampu menurunkan konsentrasi tannin, dimana pada perlakuan ini cairan rumen yang paling banyak proporsinya adalah cairan rumen sapi. Hasil penelitian Wiryawan *et al* (2003), berhasil mengisolasi bakteri yang mampu mendegradasi tannin dari cairan rumen kambing.

Teori yang ada sampai sekarang menyatakan bahwa tannin akan mengikat protein dan tannin terutama tannin terkondensasi yang tidak dapat dipecah oleh mikroorganisme rumen (Makkar *et al*, 1993), sedangkan tannin terhidrolisa dapat dipecah oleh mikroorganisme rumen (Makkar *et al*, 1991) Penurunan konsentrasi tannin dapat dikarenakan adanya interaksi antara tannin dengan mikroba rumen. Cairan rumen yang digunakan pada penelitian ini berasal dari tempat yang berbeda oleh karena itu juga berarti pakan yang dimakan oleh ternak tersebut juga berbeda-beda. Sejalan dengan penelitian Jouany (1991) interaksi dalam rumen memperlihatkan kestabilan dan kemampuan beradaptasi mikroba rumen dengan pakan yang berbeda-beda. Sedangkan menurut Wina *et al* (1998), penurunan konsentrasi tannin

disebabkan oleh perubahan struktur tannin sehingga tidak dapat dideteksi dengan metode yang diketahui atau memang dipecah oleh mikroba rumen. Reed (1994) menyatakan tannin dapat membentuk ikatan kompleks dengan protein dan dapat menghambat kerja enzim.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa semua perlakuan yang digunakan bakterinya mampu hidup dalam media yang berisi asam tannat 2 %, bahkan mampu menurunkan konsentrasi tannin. Hal ini berarti tahap adaptasi yang dilakukan dengan teknik *in vitro* juga mampu menyeleksi mikroba rumen yang mampu toleran terhadap asam tannat. Untuk itu dibutuhkan seleksi pada jenis-jenis mikroba yang terdapat pada cairan rumen yang diteliti hingga diperoleh isolat.

Pada perlakuan diatas perlakuan yang terbaik diperoleh pada perlakuan P3 meskipun secara statistik tidak menunjukkan perbedaan yang nyata, tetapi dilihat dari perlakuan P1 dan P2 hanya perlakuan P3 yang mampu menurunkan konsentrasi tannin. Selain daripada itu jumlah koloni bakteri yang tumbuh dari sebelum dan sesudah inkubasi juga meningkat. Sejalan dengan penelitian Fauziah (2008) cairan rumen yang terbaik adalah cairan rumen sapi dibandingkan dengan cairan rumen kambing dan kerbau, dimana cairan rumen sapi tersebut mampu menurunkan konsentrasi tannin meskipun secara statistik menunjukkan perbedaan yang tidak nyata.

### Konsentrasi N-NH<sub>3</sub>

Hasil pengukuran rata-rata nilai konsentrasi N-NH<sub>3</sub> secara *in vitro* pada masing-masing perlakuan dapat dilihat pada Tabel 4.



Tabel 4. Rataan konsentrasi N-NH<sub>3</sub> secara *in vitro* masing-masing perlakuan

Perlakuan	Konsentrasi N-NH <sub>3</sub> (mM)
P1	0.5
P2	0.5
P3	0.5

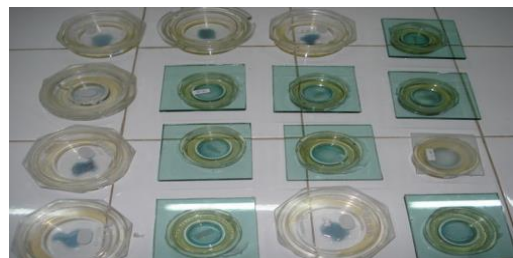
Hasil analisis keragaman menunjukkan bahwa semua perlakuan memberikan pengaruh tidak nyata ( $P < 0.05$ ) terhadap konsentrasi N-NH<sub>3</sub> cairan rumen. Hal ini disebabkan karena tidak adanya sumber protein dalam pakan atau substrat yang digunakan, namun sebaliknya protein yang terdapat dalam tiap perlakuan diikat oleh tanin. Tanin dapat menurunkan kemampuan degradasi protein dan deaminasi dalam rumen serta menghasilkan kadar N-NH<sub>3</sub> yang rendah.

Amonia merupakan salah satu produk dari aktivitas fermentasi dalam rumen, yakni dari degradasi protein yang berasal dari pakan dan sumber nitrogen yang cukup penting untuk sintesis mikroba rumen. Menurut Haryanto (1994) tinggi rendahnya konsentrasi amonia ditentukan oleh tingkat protein pakan yang dikonsumsi, derajat degradabilitas, lamanya pakan berada dalam rumen dan pH rumen.

Hume (1982) menyatakan bahwa semakin tinggi protein yang terdegradasi oleh mikroba rumen maka akan semakin tinggi pula konsentrasi amonia yang dihasilkan. Produksi amonia yang tinggi merupakan indikasi bahwa terjadi degradasi protein di dalam rumen dalam jumlah yang banyak. Produktivitas rumen pada ternak ruminansia pada daerah tropik kering dipengaruhi oleh suplai protein yang cukup. Protein banyak terkandung dalam semak dan pohon legum seperti kaliandrayang

mengandung protein tinggi pada daun. Gambar hasil konsentrasi N-NH<sub>3</sub> setelah diinkubasi selama 24 jam dapat dilihat pada Gambar 2.

Meskipun konsentrasi N-NH<sub>3</sub> rendah tetapi jika dilihat dari Tabel 4 dapat diketahui bahwa bakteri masih dapat bertahan hidup pada konsentrasi asam tanin 2 %, dimana jumlah daripada bakteri tersebut juga menunjukkan peningkatan dari sebelum dan sesudah diinkubasi dengan asam tanin. Nelson *et al*, (1995) mendapatkan bakteri rumen yang toleran terhadap tanin dimana seluruh bakteri yang toleran terhadap tanin mampu menghasilkan sumber amonia dan asam amino dan tidak mampu memanfaatkan N. Konsentrasi N-NH<sub>3</sub> pada penelitian ini menunjukkan bahwa masih terdapat aktivitas mikroba rumen meskipun konsentrasi N-NH<sub>3</sub> yang dihasilkan rendah, hal ini dapat diketahui dari peningkatan koloni bakteri sebelum dan sesudah inkubasi.

Gambar 2. Hasil konsentrasi N-NH<sub>3</sub> setelah diinkubasi selama 24 jam

Menurut Preston and Leng (1987) untuk pertumbuhan mikroba rumen yang optimal konsentrasi amonia dalam rumen berkisar 3.4-11 mM, sedangkan pada penelitian ini konsentrasi N-NH<sub>3</sub> yang didapat lebih rendah yakni 1,00 M. Hal ini disebabkan oleh karena kandungan tanin sebagai antinutrisi yang terdapat dalam perlakuan, dimana antinutrisi ini

mampu menurunkan konsentrasi amonia tetapi masih terdapat juga kandungan amonia, sehingga bakteri masih dapat tetap hidup. Konsentrasi amonia dalam rumen berfluktuasi mulai kurang dari 1 mM sampai lebih dari 40 mM tergantung dari pakan dan pengambilan sampel.

Setelah dilakukan inkubasi dengan asam tannat 2% selama 2 hari diketahui bahwa konsentrasi N-NH<sub>3</sub> menurun dikarenakan tanin mampu mengikat protein yang terdapat pada perlakuan. Hal ini sesuai dengan pendapat Hernaman *et al* (2005), yang menyatakan bahwa konsentrasi N-NH<sub>3</sub> yang rendah disebabkan oleh penambahan konsentrasi asam tanat yang mengikat sebagian protein yang membentuk kompleks tanin protein, sehingga sulit difermentasi menjadi N-NH<sub>3</sub>.

Mc Sweeney, *et al.* (1999) menyatakan bahwa bakteri mikroba rumen mampu mencerna protein dalam tanin terkondensasi. Protein yang terdapat dalam rumen akan dihidrolisa menjadi asam amino selanjutnya asam amino dideaminasi menjadi amonia dimana sebagian besar amonia merupakan sumber N yang paling penting untuk pertumbuhan bakteri. Sebagian kecil amonia diserap oleh dinding rumen masuk dalam aliran darah. Semua bakteri yang toleran terhadap tanin mampu menggunakan amonia dan asam amino sebagai sumber N (Andini, 2003)

### KESIMPULAN

Proporsi berbagai cairan rumen memiliki kemampuan dalam mengatasi tanin secara *in vitro*. Perlakuan dengan proporsi cairan rumen sapi dominan (50%) mengandung bakteri yang mampu mendegradasi tanin, sedangkan cairan rumen kambing dan cairan rumen kerbau

dominan mengandung bakteri yang toleran terhadap tanin.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada semua pihak terutama Rumah Potong Hewan Gandus yang telah banyak membantu sejak persiapan hingga terselenggaranya penelitian ini dengan baik

### DAFTAR PUSTAKA

- Abrar, A. 2001. Eksplorasi Mikroba Rumen Pendegradasi Sianida. Tesis. Program Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor.
- Arora, S.P., 1983. Microbial Digestion In Ruminants. Diterjemahkan oleh Murwani, R. 1989. Pencernaan Mikroba pada Ruminansia. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Alison, M.J., J.A. Bucklin, and E.W. Dougherty. 1964. Ruminal change after over feeding with wheat and the effect of intra ruminal inoculation on adaptation to a ration containing wheat. J. Anim. Sci., 23: 1164 – 1171
- Andini. L. S., K. G. Wiryawan., Suryahadi, dan Suharyono. 2003. Pengaruh DABA dan *Acacia vilosa* pada cairan rumen terpilih secara *in vitro*. Puslitbang Peternakan. Bogor.
- Brooker. J. D., L. O. Donovan, I. Skene, and Sellick. 1993. Mechanism of tannin resistance detoxification in the rumen. Animal Science Departemen. University of Adelaide. Australia.
- Fauziah, S. 2008. Kemampuan Degradasi Tanin oleh Berbagai Jenis Cairan Rumen. Skripsi. Universitas Sriwijaya. Sumatera Selatan.

- Ginting, S.P. 2005. Tantangan dan peluang pemanfaatan pakan lokal untuk pengembangan peternakan kambing di Indonesia. Lokakarya Nasional Kambing Potong. Pusat Penelitian dan Pengembangan Peternakan.
- Haryanto, B. 1994. Respon produksi karkas domba terhadap strategi pemberian protein by-pass rumen. J. Ilmiah Penelitian Ternak Klepu. 3 (2)
- Hernaman. I., U. Hidayat Tanowina dan M. Fatah Wiyatna. 2005. Pengaruh penggunaan berbagai tingkat kulit kopi dalam ransum penggemukan sapi potong terhadap fermentasi rumen dan pencernaan *in vitro*. Fakultas Peternakan Universitas Padjajaran. Bandung.
- Hume, J. D. 1982. Fibre digestion in the ruminant nutrition and growth. Manual Melbourne: Hedge and Bell Pty Ltd.
- Jones, R. J. 1981. Does ruminal metabolism of mimosine explain the absence of leucaena toxicity in Hawaii, Aust. Vet. J. 57:55-56.
- Jouany. J. P. 1991. Rumen Microbial Metabolism and Ruminant Digestion. Institut National De La Recherche Agroomique. Paris
- Kahn. L. P. and Diaz-Hernandez. 2003. Tannin with anthelmintic properties. Animal Research. University of New England. Australia.
- Kamra, D. N. 2005. Rumen Microbial Ecosystem. Current Science, Vol. 89, No 1.
- Makkar, H. P. S. 1991. Antinutritional factor in animal feedstuffs mode of action Int J. Anim. Sci. 6 : 88-94.
- Makkar, H. P. S. 1993. Antinutritional factors in foods for livestock. British Society of Anim. Prod. Occasional Publication No. 16.
- McSweeney, C. S., Brian Palmer, Rowan Bunch and Denis O Krause. 1999. Isolation dan characterization of proteolytic ruminal bacteria from sheep dan goats fed the Tannins-Containing shrub legum *Calliandra calothyrsus*. Applied and Environmental Microbiology, Juli 1999. p 3075-3083.
- Mc Sweeny, C. S., B. Palmer and D. O. Krause. 2003. Rumen microbial ecology and physiology in sheep and goats fed tannin-containing diet. Aciar Processing No. 92.
- Mindelwill, I. 2006. Mikroba dalam rumen sapi. [www.google.go.id](http://www.google.go.id). (21 Mei 2007)
- Munawar, Hary, W., Alisa N. 2007. Petunjuk Praktikum Mikrobiologi II. Fakultas MIPA. Universitas Sriwijaya.
- Nelson, K. E., Michael L Thonney, Tina, K. Woolston, Stephen H. Zinder dan Alice N. Pell. 1995. Phenotypic and phylogenetic characterization of ruminal tannin-tolerant bacteria. Applied and Environmental Microbiology, Oktober 1998. p. 3024-3830.
- Ogimoto, K and Imai. 1980. Atlas of Rumen Microbiology. Japan Scientific Society Press. Tokyo.
- Pell, A. N., T. K. Woolston., K. E. Nelson and P. Schofield. 2003. Tanins: Biological activity and bacterial tolerance. J. Animal Science. Cornell University. USA.
- Preston, T. R. A. Leng. 1987. Matching Ruminant Production System with Available Sources in Tropics. Penabul book. Aemidale.
- Reed, J. D. 1994. Nutritional Toxicology of Tanins and Related Polyphenol In Forage Legumes. J. Anim Sci.
- Sayuti, N. 1989. Ruminologi. Fakultas Peternakan. Universitas Andalas, Padang.

- Stell, R. G. D and J. H. Torrie. 1995. Prinsip dan Prosedur Statistika. PT. Gramedia. Jakarta.
- Steward, C. S. 1991. The Rumen Bacteria. *In* Rumen Microbial Metabolism and Ruminant Digestion. Eds. Jouany, J. P. INRA. Paris.
- Tagari, H. Y, Hennis. Musha, T and R, Volcani. 1965. Effect of carob pod extract on cellulolysis, proteolysis deamination, and protein biosynthesis in a artificial rumen. J. American Society for Microbiology.
- Tangenjaja, B and Wina E. 2003. Tannins and Ruminant Production in Indonesia. Research Institute for animal production. Bogor. Indonesia.
- Thalib, A. B. Haryanto, S. KOMPIANG, I. W. Malihus dan A. Aini. 1999. Pengaruh mikromineral dan fenilpropionat terhadap Performans Bakteri Sellulolitik Cooci dan Batang dalam mencerna Serat Hijauan Pakan. Balai Penelitian Ternak. Bogor.
- Tilley, J. M. A. and R. A. Terry. 1963. A two-stage technique for *in vitro* digestion of forages crop. J. Br. Grass. Soc.
- Tilman, A. D., Hari Hartadi, Soedomo., R, Soeharto. P., Soekanto, L. 1998. Ilmu Makanan Ternak dasar. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- Wina. E, Sri. R., Chrisca. M., dan Budi. T. 2006. The Interaction of isolated tannin from *Caliandra calothyrsus* with  $\text{Cu}^{2+}$  and  $\text{Fe}^{2+}$  and its effect on the *in vitro* digestibility. Animal Research Center, Ciawi Bogor.
- Wiryawan, K. G., Tangendjaja, B. and Suryahadi, Brooker, J. D. 1999. Tannin degrading bacteria from Indonesian ruminants. In Tannins in Livestock and Human Nutrition. Proc International Workshop, Adelaide. Australia. 31 May–2 June, 1999. pp. 123-126.
- Wiryawan, K.G., Tangenjaja, B., and Suryahadi. 2003. Tannin degrading bacteria from Indonesian Ruminants. Animal Research Center, Ciawi Bogor.